

**PREMIER RAPPORT D'ACTIVITE DU CONTRAT  
TS3-CT92-0074**

**LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES DE L'ARACHIDE  
EN AFRIQUE DE L'OUEST**

**Novembre 1992 - Mai 1993**

**Le Coordinateur Scientifique  
R. SCHILLING  
CIRAD-CA**

**B. P. 5035 - 34032 MONTPELLIER CEDEX 1  
Tél 67 61 58 00 - Fax 67 61 56 32 - Télex 480573F**

PREMIER RAPPORT D'ACTIVITE DU CONTRAT  
TS3-CT92-0074

**LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES DE L'ARACHIDE  
EN AFRIQUE DE L'OUEST**

Novembre 1992 - Mai 1993

R. SCHILLING,  
Coordinateur

**1. INTRODUCTION**

Ce rapport rend compte des travaux réalisés durant la première phase du contrat TS3-CT92-0074 par les partenaires scientifiques du Projet "Lutte contre les maladies foliaires de l'arachide en Afrique de l'Ouest" :

- INERA Burkina-Faso
- University College London
- IDR Ouagadougou
- MNHN Paris
- CIRAD-CA France

PARE Denis  
STRANGE Richard  
SANKARA Philippe  
ABADIE Michel  
SCHILLING Robert

Divers retards administratifs et les impératifs du calendrier agricole ont provoqué un décalage entre la prise d'effet du contrat (1er novembre 1992), la mise à disposition effective des fonds et le démarrage des opérations. Les mêmes contraintes expliquent probablement le caractère très préliminaire du rapport adressé par l'Institut de Développement Rural du Burkina-Faso. Les travaux conduits durant cette première période sont donc limités et ont souvent été soit préfinancés, soit conduits sur des financements extérieurs (cas du stage d'un chercheur burkinabe au laboratoire de phytopathologie du CIRAD). Ce décalage justifiera probablement un prolongement correspondant des activités en fin de contrat.

## 2. REPARTITION DES TACHES

Une modification importante est survenue dans la répartition des tâches telle qu'elle avait été prévue initialement : la démission et le non-remplacement de M. BOSCH, chercheur du CIRAD détaché à l'INERA et affecté au projet STD2, coïncidant avec l'affectation d'un chercheur national (M. Pare), celui-ci a pris en charge directement les actions relevant de l'INERA, avec l'assistance de M. Bonkounou. Ceci entraînera une modification des prestations du CIRAD-CA, qui consisteront (outre la coordination) à apporter un appui scientifique et logistique à M. Pare. La nouvelle répartition des dépenses qui en résultera (sans changement d'attribution des crédits) fera l'objet d'une correspondance séparée. Cette décision a été confirmée lors d'une réunion tenue à Ouagadougou en mars 1993, en marge de l'Assemblée plénière de la CORAF à laquelle participaient l'INERA, le CIRAD et la CCE/DG XII ; l'University College a donné son accord de principe dans un deuxième temps. L'appui scientifique apporté à M. Paré sera fourni principalement sous forme de missions confiées à M. Subba Rao, chercheur de l'ICRISAT précédemment détaché au CIRAD où il a conduit d'important travaux sur la cercosporiose hâtive de l'arachide, et tout récemment basé à Londres où il assure, conjointement avec le Dr Strange, la conduite des actions de recherche relevant de l'University College dans le cadre du présent projet. M. Subba Rao sera donc en mesure de contribuer efficacement à la cohérence d'ensemble des opérations et à leur suivi en Grande-Bretagne, au Burkina-Faso et en France.

## 3. MISE EN PLACE DU PROGRAMME

Le premier semestre d'activité a été consacré à revoir et à définir plus précisément la répartition du travail, puis à initier un certain nombre d'actions de recherche et de formation :

### ► INERA et CIRAD :

M. Subba Rao, chercheur ICRISAT, a conduit un important travail sur la cercosporiose hâtive de l'arachide à Montpellier, en collaboration avec le CIRAD. Cette action de recherche, complémentaire de celles prévues au présent projet, a été l'occasion d'accueillir en stage M. Bonkounou, ingénieur burkinabe, précédemment adjoint de M. Bosch et actuellement collaborateur de M. Pare. Le début de campagne agricole au Burkina-Faso a vu les travaux habituels de préparation des essais aux champs et de remise en état du matériel de laboratoire.

### ► University College :

Une première investigation a été conduite afin d'isoler et d'identifier les composantes antifongiques secrétées par les feuilles d'arachide infestées par les cercosporioses et la rouille. Les isolats extraits de feuilles infestées naturellement aux champs ont été testés au laboratoire pour leur activité fongique ; les analyses en cours conduisent à séparer, purifier, identifier puis ultérieurement à quantifier ces composantes, pour contribuer à une meilleure connaissance des mécanismes de défense de l'arachide aux pathogènes foliaires.

### ► Muséum National d'Histoire Naturelle :

Le Professeur Abadie assume désormais la responsabilité scientifique de ce volet du Projet, suite au départ à la retraite de son prédécesseur, le Professeur Lacoste. A partir d'échantillons expédiés du Sénégal par un ex-stagiaire du Muséum (M. Bonhomme, participant au projet STD "arachide irriguée"), des observations au microscope photonique ont permis une première évaluation de la sensibilité

cellulaire de l'hôte à l'agression du champignon. Des études au microscope électronique ont fourni des informations sur les structures sporales, sur l'évolution des structures cellulaires contaminées et sur le comportement du parasite dans les tissus de l'hôte.

► **Institut du Développement Rural :**

La période considérée aura vu la mise en place, sur la Station de Niangoloko, d'une trentaine de variétés de diverses provenances (ICRISAT, INERA, USA) qui seront suivies conjointement avec l'INERA pour leur résistance à la rouille, évaluée au moyen du système de notation mis au point par l'ICRISAT. Les résultats seront ensuite vérifiés par des tests au laboratoire réalisés selon les méthodes d'inoculation artificielle élaborées précédemment, et le matériel végétal servira ultérieurement pour les extractions.

Les achats d'équipement ainsi que les séjours prévus sur les sites européens du Projet ont été préparés.



## **A N N E X E S**

- RAPPORT INERA, BURKINA-FASO
- RAPPORT UNIVERSITY COLLEGE, LONDRES
- RAPPORT MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE, FRANCE
- RAPPORT INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL, BURKINA-FASO,
- FICHE DE PRESENTATION DU PROJET



**INERA, BURKINA-FASO**

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

---

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

---

INSTITUT D'ETUDES  
ET DE RECHERCHES AGRICOLES

---

BURKINA FASO  
La Patrie ou la Mort  
Nous Vaincrons!

LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES DE L'ARACHIDE  
EN AFRIQUE DE L'OUEST

TS3\*-CT92-0074

RAPPORT D'ACTIVITES  
DECEMBRE 1992 - MAI 1993

BONKOUNGOU SAIDOU

PARE DENIS



## INTRODUCTION

Les principales activités prévues au cours de la première année (cf échéancier phase 3) du Projet "LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES DE L'ARACHIDE EN AFRIQUE DE L'OUEST" par l'Institut d'Etudes et de Recherches Agricoles (INERA) concernent surtout le terrain c'est-à-dire sont à mener au champ. Seules, les études qui ont trait aux approches techniques pour l'inoculation artificielle des cercosporioses de l'arachide ont lieu au laboratoire. A cette exception près, toutes les autres activités sont liées au démarrage de la saison pluvieuse à partir du mois de juin. En conséquence, peu de travaux se rapportant au Projet durant ce premier semestre (1er décembre 1992 - 31 mai 1993) ont été entrepris mis à part ceux relatifs à l'inoculation des cercosporioses. La saison sèche a été mise à profit par Mr BONKOUNGOU pour effectuer un stage de formation sur le sujet au laboratoire de phytopathologie du CIRAD à Montpellier/France. Un résumé du compte rendu de ce stage figure ci-dessous. On trouvera aussi les comptes rendus succincts des missions étrangères et nationales reçues dans le cadre du projet, l'état d'avancement de la reprise des activités au laboratoire de Farako-ba, les prévisions d'activités pour le semestre à venir et une conclusion.

### I/ RESUME DU COMPTE RENDU DE STAGE DE FORMATION SUR LES TECHNIQUES DE MANIPULATION AU LABORATOIRE DU CERCOSPORA arachidicola, AGENT PATHOGENE DE CERCOSPORIOSE PRECOCE.

Montpellier, 23/02/1993 - 17/03/1993.

Le laboratoire de phytopathologie du CIRAD travaille depuis 1990 sur les races physiologiques de la cercosporiose précoce. Il a donc une expérience sur l'inoculation artificielle de cette maladie. C'est dans le but d'acquérir des connaissances en matière d'inoculation artificielle et assurer de meilleures perspectives de réussite des études prévues dans ce sens au niveau du présent projet, que Mr BONKOUNGOU phytopathologiste à Niangoloko, a effectué ce stage de 3 semaines. Cela lui a permis de suivre les différentes phases de manipulations du Cercospora arachidicola depuis la préparation des milieux artificiels jusqu'aux différents types d'inoculations sur les feuilles entières d'arachide ou sur les folioles.

Les techniques acquises lors de ce stage et qui sont également valables pour la cercosporiose tardive seront reprises et adaptées aux laboratoires de Niangoloko et de Farako-ba.



## II/ COMPTE RENDU DES DIFFERENTES MISSIONS EFFECTUEES DANS LE CADRE DU PROJET.

Du 15 au 17 mars 1993, MM A.DARTHENUQC et E.VERKANT, respectivement responsable à la Commission des Communautés européennes (Bruxelles - DG XII) et chargé de mission à la DGRT du Ministère français de la Recherche et de la Technologie ont visité les Stations de Niangoloko et de Farako-ba et rencontré le Chef du Projet, Mme C.DABIRE, en présence de ses proches collaborateurs. Il est ressorti des échanges de points de vue ce qui suit:

- Le laboratoire de phytopathologie de Farako-ba sera dirigé par Mr PARE Denis en lieu et place de l'assistant technique qui avait été demandé au niveau de la Coopération Française par l'INERA.

- Les fonds du Projet devraient être rapidement disponibles.

Le Chef de Projet a effectué par la suite des missions à Bobo-Dioulasso et à Niangoloko pour discuter avec les chercheurs impliqués et avec les responsables de Farako-Ba de la reprise des travaux au laboratoire de phytopathologie de l'arachide de cette station. Il en est ressorti que des moyens de déplacement et de fonctionnement étaient indispensables pour la réactivation des travaux. Il s'agissait entre autres de pouvoir disposer d'un véhicule de liaison. Ce véhicule étant prévu dans le cadre du recrutement d'un assistant technique.

## III/ ETAT D'AVANCEMENT DES ACTIVITES AU LABORATOIRE DE FARAKO-BA.

Le laboratoire de phytopathologie de l'arachide de Farako-ba est resté non fonctionnel depuis mai 1991 après le départ de Mr J.P. BOSC en fin de séjour.

A la fin mai 1993, plusieurs dispositions ont été prises pour le démarrage des activités: il s'est agi principalement de certaines révisions et réparations du matériel disponible dans le laboratoire et du contrôle de l'état du mobilier. Les activités de recherches pourront commencer dès le mois de juin pour la partie INERA.

IV/ PREVISIONS DES ACTIVITES DE RECHERCHE POUR  
SEMESTRE JUIN 1993 - NOVEMBRE 1993

Les activités qui seront conduites pendant cette période seront conformes aux dispositions du document de Projet, à savoir:

-Mise au point d'une méthode d'inoculation artificielle des cercosporioses au laboratoire (adaptation des méthodes développées au CIRAD/Montpellier);

-Etude des pertes de rendement dues à la cercosporiose précoce dans les zones à pluviométrie inférieure à 900 mm;

-Suivi de l'évolution des maladies au champ;

-Détermination des critères de seuil de sévérité;

-Etude du semis précoce sur variété d'arachide tardive;

-Expérimentation sur les produits fongicides.

V/ CONCLUSION.

Le premier semestre du Projet a été marqué par le stage de formation sur les inoculations artificielles des cercosporioses et par les différentes démarches préparatoires au démarrage effectif des travaux de la campagne de culture à partir du mois de juin 1993. Les premiers fonds du Projet ont été reçus en mai et permettront de commencer les travaux début-juin 1993.

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDAIRE, SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

---

BURKINA FASO

---

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

---

INSTITUT D'ETUDES  
ET DE RECHERCHES AGRICOLES

---

COMPTE RENDU DE STAGE :

TECHNIQUES DE MANIPULATION AU LABORATOIRE DU  
CERCOSPORA ARACHIDICOLA Hori, AGENT PATHOGENE  
DE LA CERCOSPORIOSE PRECOCE DE L'ARACHIDE.

Lieu de Stage : LABORATOIRE DE PHYTOPATHOLOGIE  
DU CIRAD / MONTPELLIER - FRANCE.

Responsable Technique  
de la Formation : DR P.V. SUBBA RAO

BONKOUNGOU SAÏDOU  
Ingénieur de recherches

23 FEVRIER - 17 MARS 1993



## I N T R O D U C T I O N

Les principales maladies foliaires de l'arachide au BURKINA FASO sont la rouille (Puccinia arachidis Speg.), la cercosporiose précoce (Cercospora arachidicola Hori) et la cercosporiose tardive (Phaeoisariopsis personata (Berk & Curt) V. Arx). Des travaux de recherches sur la lutte contre ces trois contraintes parasitaires ont été entrepris par l'Institut d'Etudes et de Recherches Agricoles (INERA) du BURKINA. L'accent a été jusque là, mis sur la rouille.

Les techniques d'inoculation artificielle de cette dernière maladie ont été maîtrisées par le laboratoire de phytopathologie de l'arachide à FARAKO-BA (au BURKINA); elles ont été utilisées pour le criblage au laboratoire et au champ des lignées d'arachide issues de la sélection réalisée à NIANGOLOKO pour la résistance variétale à la maladie. Les travaux entrepris sur la rouille se poursuivent et quelques variétés résistantes à la maladie seront bientôt disponibles.

En ce qui concerne les cercosporioses, un programme de croisements pour la résistance variétale a été récemment mis en place à la Station de Recherches Agricoles de Niangoloko. Ce programme doit être appuyé par des criblages au laboratoire des nouvelles lignées obtenues. Cependant, les techniques d'inoculation de ces maladies n'ayant pas encore été abordées au laboratoire de FARAKO-BA, il était nécessaire que je puisse bénéficier des expériences d'autres chercheurs travaillant sur le sujet. Le laboratoire de phytopathologie du Centre de Coopération Internationale en Recherches Agronomiques pour le Développement (CIRAD) à Montpellier / FRANCE était indiqué car, depuis Octobre 1990, dans le cadre d'un projet conjoint ICRISAT\* / CIRAD, le Dr P.V. SUBBA RAO y travaille sur les races physiologiques de la cercosporiose précoce à partir d'une quinzaine d'isolats provenant des souches de quatorze pays africains, américains et asiatiques.

C'est donc dans le but d'acquérir des techniques d'inoculation des cercosporioses que j'ai effectué un stage de trois semaines (23/02/93 - 17/03/1993) dans ce laboratoire. Il a été organisé par le CIRAD à la demande de l'INERA. L'encadrement technique a été assuré par le Dr P.V. SUBBA RAO.

Le présent compte rendu résume le déroulement de ce stage, les techniques et expériences acquises. Il comporte les points suivants:

- A / Les grandes lignes du stage.
- B / Synthèse des travaux réalisés.
- C / Conclusions & perspectives.

\* ICRISAT : International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics



### A/ LES GRANDES LIGNES DU STAGE.

Dès mon arrivée au laboratoire le 23 Février 1993, après les formalités administratives, le Dr SUBBA RAO et moi avons arrêté les principaux chapitres du stage:

- I - Préparation des divers milieux de culture.
- II - Culture de Phaeoisariopsis personata.
- III - Culture de Cercospora arachidicola.
- IV - Préparation de différentes suspensions de conidies et estimation de leur concentration.
- V - Inoculations artificielles de C. arachidicola sur des feuilles entières et des folioles d'arachide détachées.
- VI - Test de germination des conidies de cercosporioses.

Outre ces manipulations, je devais également discuter avec le Dr SUBBA RAO des protocoles d'étude de la survie des conidies de cercosporioses après enfouissement, à différentes profondeurs du sol, des débris de récolte d'arachide contaminés. Ce stage était aussi une occasion pour moi de bénéficier des résultats des travaux du Dr SUBBA RAO sur les races physiologiques de cercosporiose précoce.

### B/ SYNTHESE DES TRAVAUX REALISES: TECHNIQUES & EXPERIENCES ACQUISES.

#### B1: CADRE & MATERIEL DE TRAVAIL.

Les travaux se sont déroulés au laboratoire et en serre conformément au plan établi dès le premier jour: les plantes d'arachide utilisées dans les diverses manipulations sont issues de semis réalisés en serre où les conditions d'éclairement et de température sont contrôlées. Le matériel fongique était constitué des différents isolats de cercosporiose précoce provenant de différents pays et qui font l'objet des études réalisées dans ce laboratoire du CIRAD. Une souche de cercosporiose tardive que j'ai ramenée du BURKINA a été également utilisée. Le matériel de laboratoire le plus couramment employé a été la chambre d'incubation ( $T^{\circ}$  à  $25^{\circ} \pm 1^{\circ}C$ , alternance de 12 heures d'obscurité et de lumière), les incubateurs, la hotte, le petit outillage de manipulation et bien entendu les microscopes.

## B2/ DEROULEMENT DES TRAVAUX ET LES TECHNIQUES ACQUISES.

A la différence de P. arachidis responsable de la rouille de l'arachide, les agents pathogènes des cercosporioses peuvent se cultiver sur milieu artificiel. C'est pourquoi la première étape du stage a été consacrée à la description et à la préparation des différents milieux de culture. Quatre milieux sont actuellement mis au point parmi lesquels le milieu FA (Feuilles d'Arachide) est l'un des meilleurs pour cultiver C. arachidicola. En conséquence, c'est surtout celui-ci que nous avons préparé. Sa composition est la suivante: Filtrat de broyat de feuilles fraîches d'arachide + Poudre d'avoine + Agar-Agar + Eau distillée.

Après avoir mis à incuber le mycélium de la cercosporiose tardive, nous avons isolé les conidies qui se sont développées et procédé ensuite à leur ensemencement sur le milieu gélosé préalablement coulé dans des boîtes de pétri. D'autres cultures de C. arachidicola ont été par la suite réalisées. Le transfert des conidies se fait à l'aide d'aiguilles d'ensemencement et en condition stérile pour éviter toute autre contamination. Toutes les cultures réalisées ont réussi à l'exception de celle de la cercosporiose tardive qui a été fortement contaminée par d'autres champignons. Une nouvelle souche sera envoyée au laboratoire pour la reprise du test.

Les différentes suspensions d'inoculum à partir des conidies récoltées sur du milieu de culture ou à partir des feuilles ou des folioles d'arachide ont été décrites par le Dr SUBBA RAO. Nous les avons ensuite préparées puis avons procédé à des inoculations sur des feuilles repiquées dans des bacs et sur des folioles placées dans des boîtes de Pétri. Les feuilles inoculées sont ensuite placées dans la chambre d'incubation. Nous avons pu observer les premiers symptômes de la maladie environ deux semaines après inoculation.

La réussite d'une inoculation dépendant, entre autres, de la viabilité des conidies qui composent la suspension d'inoculum, nous avons réalisé des tests de germination sur certaines suspensions. Pour cela, on met en incubation une goutte de suspension déposée sur une lame, à 25 °C et pendant 16 heures à l'obscurité. Après cette période, l'observation de la goutte au microscope permet de distinguer et de compter le nombre de conidies germées et on déduit le pourcentage de germination.

Il est à remarquer que la notion de concentration des conidies dans une suspension pour le pourcentage de germination est plus délicate chez les cercosporioses que chez la rouille. Pour les cercosporioses, on parle souvent de concentration de propagules qui comprend les conidies entières, des fragments de conidies ou de mycélium tous capables de germer. On notera également que la possibilité de cultiver les pathogènes des



cercosporioses implique davantage des conditions de stérilité maximale pour éviter des contaminations d'autres champignons.

### **B3/ EXPERIENCES DIVERSES.**

A la lumière de l'entretien que j'ai eu avec le Dr SUBBA RAO, des protocoles adaptés à l'étude de la survie de l'inoculum des cercosporioses seront élaborés.

Des travaux réalisés dans le laboratoire du CIRAD sur les races physiologiques de cercosporiose précoce, on peut retenir les résultats suivants: les différents isolats de cercosporiose précoce testés se sont montrés significativement différents sur les plans de la morphologie et de la pathogénécité. Une variété d'arachide, d'après quelques composantes de résistance, peut être résistante à une souche de cercosporiose précoce et sensible à une autre. Ce fait d'expérience devrait être pris en compte dans le cadre de la sélection pour la résistance variétale à la cercosporiose précoce. D'autres travaux sont nécessaires pour préciser si les différences constatées entre les divers isolats impliquent l'existence de races physiologiques de cercosporiose précoce.

### **C/ CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.**

Ce stage de 3 semaines a permis d'approfondir ma connaissance des agents pathogènes des cercosporioses et d'acquérir les techniques de manipulation qui s'y rapportent. Celles-ci seront reprises dans les laboratoires de FARAKO-BA / NIANGOLOKO dès le mois d'Avril prochain pour une meilleure maîtrise opératoire. On abordera ensuite le criblage des lignées d'arachide issues de la sélection variétale. Les détails sur les techniques de manipulations des cercosporioses sont décrites dans un document complémentaire.

### REMERCIEMENTS

Ce stage effectué au Laboratoire de phytopathologie de Montpellier résulte de la coopération entre l'INERA et le CIRAD. Je suis heureux de remercier ici les responsables de ces deux instituts qui ont contribué à son organisation. Mes remerciements vont particulièrement à Mr le Directeur de l'INERA, BELEM P. CELESTIN, à Mme le Chef de Programme Protéagineux, DABIRE Clementine et à Mr le Conseiller Technique du même Programme, GAUTREAU Jean pour avoir entrepris les différentes démarches concernant la tenue du stage.

L'organisation matérielle et administrative du stage au niveau du CIRAD a été assurée par Mr J. DUBERNARD, Chef du Service Formation, Mr R. SCHILLING, Correspondant du Réseau Arachide de la CORAF, Mr J.L. NOTTEHEGUEM, Responsable de l'Unité de Recherches Défense de Cultures CIRAD/CA, Mr J.L. RENARD, Responsable de l'Unité de Recherches Défense des Cultures CIRAD/CP. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour l'accueil chaleureux qui m'a été réservé.

A Mr P.V. SUBBA RAO qui a assuré la conduite du stage durant ces trois semaines malgré un calendrier chargé, j'adresse en particulier mes sincères remerciements. Ceux-ci vont également à toutes et à tous ceux qui ont contribué à la réalisation et à la réussite de ce stage.



**UNIVERSITY COLLEGE, LONDRES**

# Defence Mechanisms of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to Foliar Pathogens

HALF YEARLY REPORT

P V Subba Rao and R N Strange



Department of Biology  
Darwin Building  
University College London  
Gower Street, London WC1E 6BT



# Defence Mechanisms of Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to Foliar Pathogens

P V Subba Rao and R N Strange

Department of Biology

University College London

## ABSTRACT

Groundnut leaves infected with *Cercospora arachidicola* Hori, *Phaeoisariopsis personata* (Berk. & Curt.)v. Arx and *Puccinia arachidis* Speg. causing leaf spots and rust diseases respectively, produced several antifungal compounds which were detected in TLC-bioassays. Experiments are in progress to separate and identify them and to study their role in host resistance.

## INTRODUCTION

Rust caused by *Puccinia arachidis* and leaf spots caused by *Cercospora arachidicola* and *Phaeoisariopsis personata* are the most destructive and wide spread foliar fungal diseases of groundnut causing severe yield losses wherever the crop is grown (McDonald et al. 1985, Subrahmanyam and McDonald, 1983). Although fungicidal control is effective in some cases, the high costs, lack of technical skills, and non-availability of suitable chemicals locally, limit its usage in developing countries. Breeding for disease resistance is obviously the most desirable method of disease control and an understanding of host defence mechanisms would be a useful aid to such programmes.

Groundnuts produce several antifungal compounds termed phytoalexins in response to

fungal challenge (Strange et al. 1985, Subba Rao and Strange, 1993). Experiments are in progress during the present investigations to separate, identify and study the role of these compounds in disease resistance.

Initial investigations were aimed at studying phytoalexin production in leaves naturally infected by *Cercospora arachidicola*, *Phaeoisariopsis personata* and *Puccinia arachidis* from field grown plants.

## MATERIALS AND METHODS

### Extraction of Phytoalexins

Infected leaves were ground in 50% ethyl alcohol @ 7.5 ml per g fresh weight and were incubated at room temperatures in the dark for 72 hours. Extracts were filtered and concentrated to 1/2 the volume *in vacuo*. The concentrated extracts were partitioned against n-hexane followed by ethyl acetate (3 x 25 ml) and the organic fractions from each solvent were pooled. The pooled fractions were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, evaporated and redissolved in 3.0 and 1.5 ml of hexane and ethyl acetate, respectively.

### Bioassay and detection

The concentrated fractions of hexane and ethyl acetate obtained from the infected leaf extracts were tested for their antifungal activity. Clear white areas against a dark background of fungal growth indicate the presence of antifungal compounds.

Other compounds in the extracts were detected either by their fluorescence under UV or their colour reaction when sprayed with anisaldehyde.



## Purification

The initial step of purification of the antifungal compounds consisted of the utilization of Chromatotron (Harrison Research, California, USA), a centrifugally accelerated, radial thin layer-chromatograph.

*Ethyl acetate fraction:* Ethyl acetate fractions (1.5 ml representing 50 g of fresh infected groundnut leaf tissue) was separated on the Chromatotron using a solvent combination of cyclohexane and ethyl acetate (8:1 v/v) after equilibrating the plate in the same solvent system for 10 min. Following collection of 17 five-ml fractions, the solvent combination was changed to cyclohexane, ethyl acetate and methanol (8:1:1 v/v/v), followed by cyclohexane and ethyl acetate 4:1 and 1:1 (v/v) before reverting to 8:1 (v/v). A total of 56 fractions were collected and the Chromatotron sorbent layer was finally eluted with 100% ethyl acetate followed by 100% methanol and 100% acetone. All 56 fractions and the ethyl acetate, methanol and acetone eluates were grouped into 11 fractions basing on their colour reaction with anisaldehyde spray after Si-gel TLC (solvent: chloroform and methanol 50:02 v/v). The antifungal activity of the 11 fractions was tested on a second TLC plate.

## RESULTS

Three antifungal compounds were present in the hexane fraction while the ethyl acetate fraction contained many (Fig 1).

*Hexane fraction:* The antifungal compounds in this fraction are yet to be separated and purified.



Figure 1. TLC-bioassay of the hexane (Hx) and ethyl acetate (EtoAc) fractions. White areas indicate the presence of antifungal compounds. The solvent system used was cyclohexane and ethyl acetate (1:1 v/v).

*Ethyl acetate fraction:* Of the 11 sub-fractions separated from the ethyl acetate fraction using the Chromatotron, the sub-fraction II (Fig. 2) contained only one antifungal compound, but the presence of another compound was detected when sprayed with anisaldehyde (Fig. 3). Following this observation, the sub-fraction II was further separated on a TLC plate developed in cyclohexane and ethyl acetate (1:1 v/v). Two antifungal compounds were recovered by scraping the plates at places corresponding to the  $R_f$  values of the antifungal compounds. The UV spectrum of one of this compound had an absorption peak at 287 nm and a shoulder at 282 nm which matched spectrum of medicarpin (Fig. 4, Strange et al. 1985). The identity of this compound will be confirmed by comparing its mass spectrum (MS) and NMR data with that of an authentic sample. Experiments are in progress to

identify the second antifungal compound (Fig. 5) by MS, NMR and to pursue the purification and identification of the other antifungal compounds detected in the TLC-bioassays.

## DISCUSSION

Once the identity of the antifungal compounds is known, it is intended to quantify them from crude extracts by solid phase extraction and HPLC. This will permit studies on the differential phytoalexin production in groundnut cultivars with varying levels of disease resistance. If the evidence supports a role for the involvement of phytoalexins in disease resistance, it may prove possible to exploit this by conventional plant breeding and, possibly, by genetic engineering (Hain et al. 1993).



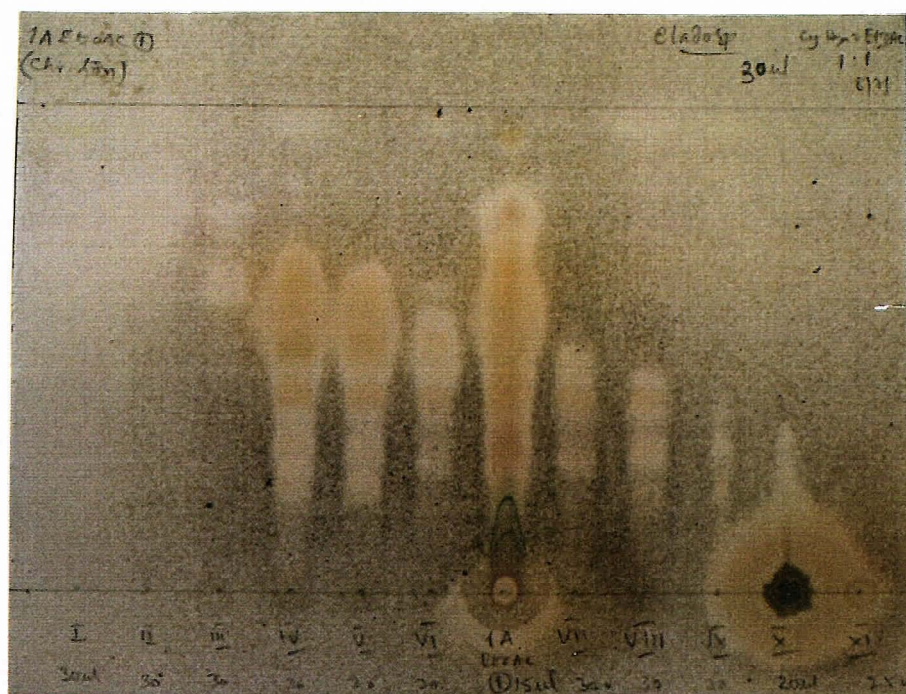


Figure 2. TLC-bioassay of the 11 sub-fractions separated from the ethyl acetate fraction (obtained from the ethanolic extracts of groundnut leaves infected with rust and leaf spot pathogens) using a Chromatotron. The TLC-plate was developed in cyclohexane and ethyl acetate (1:1 v/v). [Solvent systems used for eluting sub-fraction I: cyclohexane and ethyl acetate (8:1 v/v), II: cyclohexane, ethyl acetate and methanol (8:1:1 v/v/v) followed by cyclohexane and ethyl acetate (4:1 v/v), III-VII: cyclohexane and ethyl acetate (1:1 v/v), VIII-IX: cyclohexane and ethyl acetate (8:1 V/V) followed by 100% ethyl acetate, X: 100% methanol and XI: 100% acetone. Flow rate: 2.5 ml/min.]

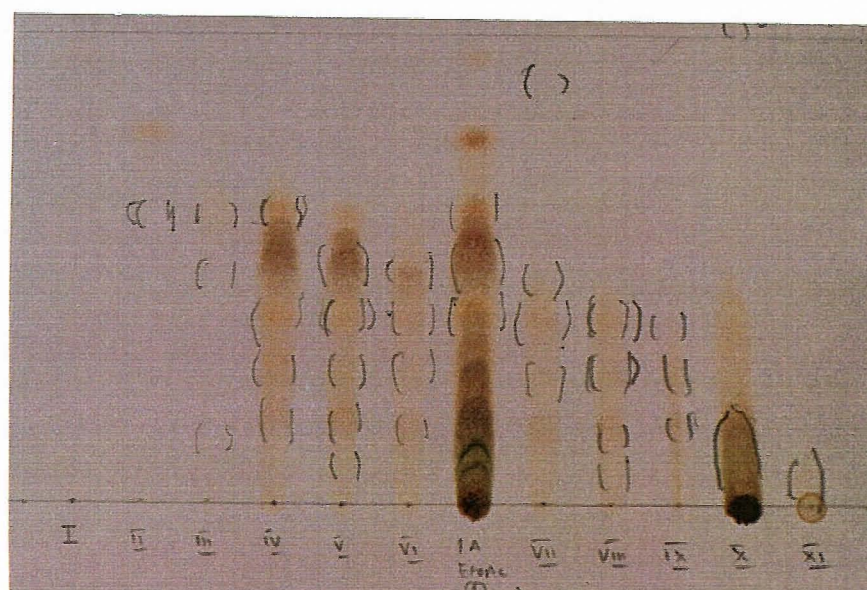


Figure 3. Anisaldehyde spray-reactions of the 11 sub-fractions separated from the ethyl acetate fraction (obtained from the ethanolic extracts of groundnut leaves infected with rust and leaf spot pathogens) using a Chromatotron. The TLC-plate was developed in cyclohexane and ethyl acetate (1:1 v/v). [Conditions of elution, see Figure 2]

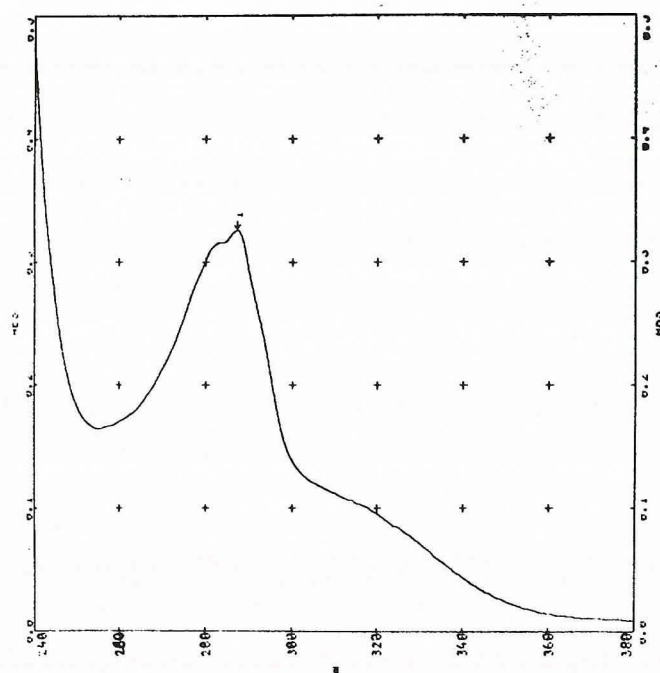


Figure 4. UV absorption spectrum (in methanol) of the first antifungal compound separated from the sub-fraction II of the ethyl acetate fraction. Note peak at 287.3 nm and a shoulder at 282 nm.

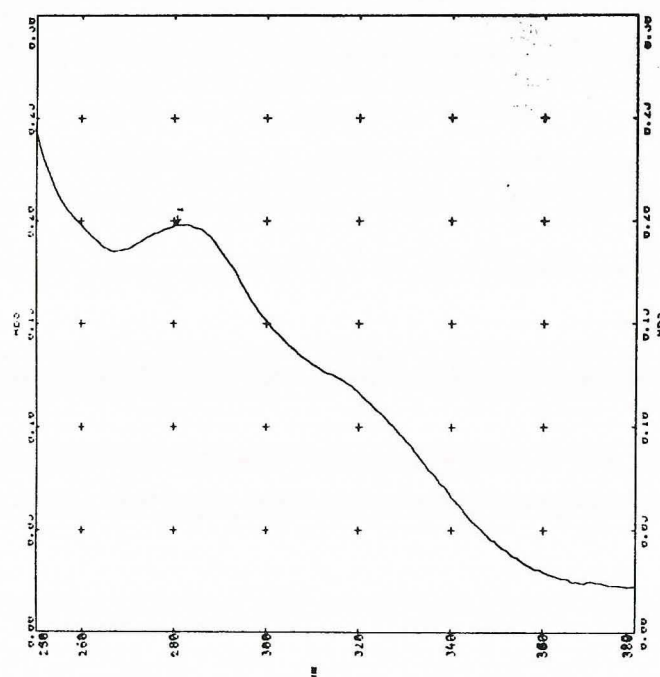


Figure 5. UV absorption spectrum (in methanol) of the second antifungal compound separated from the sub-fraction II of the ethyl acetate fraction. Note peak at 280.8 nm.



## REFERENCES

- Hain, R., Reif, H.J., Krause, E., Langebartels, R., Kindl, H., Vornam, B., Wilfried, W., Schmelzer, E., Schreier, P.H., Stocker, R.H., and Stenzel, K. 1993. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*, 361:153-156.
- McDonald, D., Subrahmanyam, P., Gibbons, R.W., and Smith, D.H. 1985. Early and late leaf spots of groundnut. Information Bulletin No. 21. Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
- Subba Rao, P.V. and Strange, R.N. 1993. The chemistry, biology and role of groundnut phytoalexins in resistance to fungal attack. *In: Handbook of Phytoalexin Metabolism and Activity*. Daniel, M and Purkayastha, RP (Eds.). Marcel Dekker Inc., New York (In press).
- Subrahmanyam, P., and McDonald, D. 1983. Rust disease of groundnut. Information Bulletin No. 13. Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.
- Strange, R.N., Ingham, J.L., Cole, D.L., Cavill, M.E., Edwards, C., Cooksey, C.J., and Garatt, P.J. 1985. Isolation of the Phytoalexin Medlicarpin from Leaflets of *Arachis hypogaea* and Related Species of the Tribe Aeschynomeneae. *Z. Naturforsch.* 40c, 313-316.

**MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE, FRANCE**



RAPPORT

SUR L'ETAT D'AVANCEMENT

du

PROGRAMME MALADIES FOLIAIRES

de

L'ARACHIDE.

EQUIPE MUSEUM - E.P.H.E.

Responsable Scientifique: Michel ABADIE

OBJET DU PROGRAMME:

Recherches ultrastructurales sur la contamination des  
feuilles d'*Arachis hypogaea* par la Rouille: *Puccinia arachidis* S.

-----

## REMARQUES PRELIMINAIRES

Administrativement démarré en novembre 1992, le nouveau programme "Maladies foliaires de l'Arachide" n'a pu commencer à se mettre en place - pour ce qui nous concerne - qu'au cours du deuxième trimestre de 1993 non seulement pour des raisons évidentes d'attribution et de déblocage tardif des crédits CEE, mais également pour des raisons de restructuration interne, propres au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum.

A cette occasion, le Laboratoire a été confronté à des difficultés qui ont sérieusement pesé sur la mise en route du programme de recherche tel qu'il avait été initialement prévu par Mr L. Lacoste, alors Directeur en titre du Laboratoire de Cryptogamie et premier Responsable scientifique du projet au niveau Muséum.

A la date du 1er février 1993, en effet, les fonds CEE n'étant pas encore attribués, Mr. Lacoste partait à la retraite sans avoir pu réaliser la récupération, la réparation et l'implantation au laboratoire de Cryptogamie des enceintes climatiques, initialement prévues par lui dans le projet...



Lors de ma prise en charge des fonctions de Responsable Scientifique à la place de Mr. Lacoste, je me suis trouvé en difficulté sur ce problème face à une nouvelle Direction transitoire du Laboratoire de Cryptogamie plutôt réticente sur la question de l'implantation de nouvelles enceintes dans ses locaux déjà exigus... J'ai donc été conduit à redéfinir le plan de l'utilisation des crédits qui me sont alloués en privilégiant le caractère immédiat des recherches que j'ai commencé d'entreprendre à la fois dans le domaine de la microscopie photonique par fluorescence et dans celui de la microscopie électronique par transmission.

Pour ce qui est des études de contaminations expérimentales *in vitro* envisagées, au départ, par Mr. Lacoste, et que j'espère bien mettre en route dans une deuxième phase de cette recherche, je crois pouvoir compter sur la faculté d'utiliser, le moment venu, une des enceintes climatiques fonctionnelles déjà en place au Laboratoire.

---

- CAMPAGNE 1992 - 1993 -

Dans l'attente de l'attribution à venir d'un poste de permanent CIRAD au Burkina Faso, et afin de pouvoir commencer la mise en route de notre programme, nous avons recentré notre recherche de matériel contaminé sur le Sénégal, par le biais d'une opportunité fournie sur place par le CIRAD en la personne de Mr. Bonhomme, engagé sur le programme *ST2: Arachide irriguée*.

Lors de sa première tournée dans le Nord du pays, le long du fleuve Sénégal, Mr Bonhomme a pu récolter un certain nombre d'échantillons de feuilles contaminées, les fixer sur place, puis les faire parvenir au Laboratoire. Il a été noté que cette récolte intervenait environ six mois après la fin de la période de manifestation "explosive" de la maladie, en 1992, et qu'en conséquence, le matériel était plutôt rare et dans un stade, hélas, très avancé de dessiccation sur pied.

Une nouvelle série de prélèvements avec fixations multiples était prévue pour la période de grande manifestation du parasite durant les mois de juin, juillet et août 1993. Faute de crédits débloqués à temps, cette tournée n'a pas eu lieu, pour l'instant, mais elle pourrait se réaliser courant septembre, ce qui permettrait de sauver, en partie, cette campagne 1993.



Quoi qu'il en soit, il s'agissait, par ce premier contact, de tester, à la fois, les procédures à mettre en place sur le terrain pour prélever et fixer dans les meilleures conditions les feuilles saines et parasitées avant de les acheminer vers Paris.

Nous avons reçu du Sénégal, 3 lots de limbes: un lot témoin, un lot de limbes présentant des attaques légères du parasite et un autre lot présentant des signes d'atteintes graves. Ces lots furent préfixés, sur place, à l'aide d'un fixateur exclusivement à base de glutaraldéhyde tamponnée. Quant à la postfixation par l'acide osmique, jugée trop opacifiante pour permettre l'observation correcte des limbes à l'arrivée, elle a été effectuée par nos soins, au Laboratoire.

#### - RESULTATS -

Le cycle de *Puccinia arachidis* S., comporte des étapes bien définies qui correspondent à la libération des spores, leur dépôt sur les limbes sains, la germination, la pénétration des hyphes dans les tissus de l'hôte, l'établissement d'une colonie mycélienne et, enfin, la sporulation (McVey. 1965; Foundin. et al. 1974; Cook. 1980; Subrahmayam et al. 1983; Savary. 1985). En dépit du caractère hétéroxène propre à la majorité des *Puccinia*, le stade télien (ou stade III) rarement observé (Porter et al, 1984) ne semble toujours pas connu, en Afrique de l'Ouest

(Savary, 1989). De son côté, la manifestation de la maladie correspond à l'apparition, sur la partie inférieure du limbe, de boursoufflures ou (pustules) surélevées au centre d'une large zone pigmentée ocre-orangée plus ou moins développée. C'est à partir de ces pustules que sont émises les *urédospores*, seuls éléments actuellement connus comme responsables de la transmission directe de la maladie sur la plante.

Les limbes infectés que nous avons reçu correspondaient visiblement au stade II, en phase finale de la dispersion des *urédospores*.

#### Etude en Microscopie Photonique

Une première étape a consisté à observer, pour les comparer sur coupes semi-fines, des sections de limbes contaminés d'abord au niveau de zones de proximité non pigmentées, puis pigmentées et enfin nécrosées. Cette étude de morphologie générale s'est avérée indispensable à la poursuite d'investigations ultérieures plus poussées en microscopie électronique: elle nous a permis d'obtenir une première évaluation globale de la sensibilité cellulaire de l'hôte à l'action du champignon.

On sait que la face inférieure du limbe est plus riche en stomates que la face supérieure (Savary, 1985). Nous pouvons voir qu'elle est bien le lieu privilégié de l'attaque du parasite. D'autre part, la paroi externe de l'épiderme de cette face est



moins épaisse que celle de la face supérieure. On remarque aussi l'existence d'une région lacunaire importante, étayée par de très grandes cellules qui la séparent d'un parenchyme palissadique aux longues cellules serrées, riches en chloroplastes. Le limbe est structuré à la fois par des travées lignifiées et par de nombreux vaisseaux conducteurs. (Pl.1, fig 1).

Nous avons observé de nombreuses *pustules à urédo*. Exceptionnellement, et dans le cas d'une contamination généralisée de la feuille en fin de saison, nous en observons également sur la surface supérieure d'un même limbe sans doute à la suite d'un processus d'autocontamination passive par germination d'urédospores, sur place.

L'utilisation de la méthode des coupes épaisses successives, réalisées au niveau des régions du limbe progressivement envahies par la tache de contamination, nous a encore permis d'observer l'établissement d'un gradient de croissance du phénomène de la nécrose des tissus, tant au niveau des cellules basales, dans le parenchyme lacuneux, qu'au niveau des cellules de l'épiderme inférieur lui-même. (Pl. II, fig. 1 et 2). Cette nécrose, provoquée à distance par les toxines émises par le parasite, se traduit par une spectaculaire condensation du contenu cellulaire accompagnée d'une forte réduction du tonoplaste. Ce phénomène atteint son paroxysme dans les grandes cellules allongées du parenchyme palissadique dont le tonoplaste occupe l'essentiel du volume cellulaire (Pl.III, fig. 1).

Observé en coupe transversale, le limbe contaminé prend l'aspect typique d'une structure voûtée, engendrée par le rétrécissement, l'épaississement et la déformation mécanique des parois des cellules épidermiques. Le phénomène se trouve amplifié par les atteintes successives des cellules du parenchyme lacuneux.

Les coupes transversales réalisées au niveau des pustules sous épidermiques montrent l'éclatement caractéristique des parois du limbe. On note également la présence d'urédospores tardives, soit en place sur leur pédicelle, soit piégées au sein des larges lacunes internes issues du processus nécrotique.

Pl.III, fig.2).

#### Etude au microscope électronique

Bien qu'il ne s'agisse, encore, que d'une *ébauche*, les premiers résultats obtenus montrent la nécessité de mettre parfaitement au point le protocole de traitement initial, sur place, du matériel végétal sain et parasité. Cela n'est pas encore réalisé parfaitement et cette préoccupation reste essentielle pour assurer, en aval, la qualité finale des futures observations réalisées à l'aide du MET.



En dépit de l'état du matériel, nous avons pu faire quelques observations précises au niveau de plusieurs régions significatives, préalablement ciblées grâce à l'étude préparatoire réalisée sur coupes semi-fines.

Les informations obtenues concernent, à la fois, les structures sporales, l'évolution des structures cellulaires sous influence des toxines fongiques ainsi que quelques images précises du comportement du parasite dans les tissus de l'hôte Pl.IV, fig.1 et 2).

En résumé, cette première approche cytologique nous a permis de prendre la mesure du phénomène à étudier et d'entrevoir les axes de nos prochaines investigations.

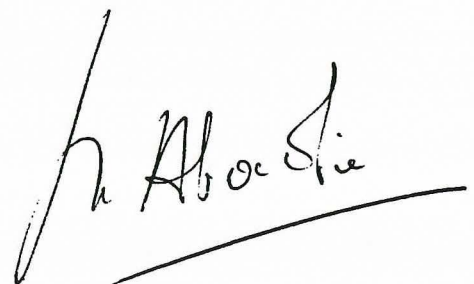
#### PERSPECTIVES

Ces premiers résultats font entrevoir que toute amélioration des conditions premières de traitement du matériel *in situ*, ne pourra que bénéficier directement à la moisson d'informations que nous espérons obtenir, grâce à la microscopie électronique, sur la dynamique de l'action du champignon pathogène sur les tissus de l'hôte.

Cette action de perfectionnement pour une meilleure approche cytologique du problème restera au centre de nos préoccupations immédiates en matière d'intervention sur les cultures en place. et fera sans doute l'objet d'un prochain déplacement au Sénégal.

Le deuxième axe de nos recherches portera plus spécialement, d'une part, sur l'étude de la germination des urédospores (dans la mesure où nous pourrions en obtenir de viables) et, d'autre part, sur le pouvoir de pénétration du filament germinatif par dissolution de la cuticule épidermique (phénomène qui reste à prouver) ainsi que de sa capacité à pénétrer directement les parois cellulaires internes (ce que nous avons commencé à démontrer).

A Paris, le 6 septembre 1993

A handwritten signature in black ink, appearing to read "H. Abou Ste", followed by a long horizontal underline.



- BIBLIOGRAPHIE -

- COOK. M., 1980 (a) - Host-parasite relations in uredinal infection of peanut by *Puccinia arachidis*.  
Phytopathology, 70, 822-826.
- COOK. M., 1980 (b) - Peanut leaf wettability and susceptibility to infection by *Puccinia arachidis*. Phytopathology, 70, 826-830.
- FOUNDIN. A.S., et MACKO. V., 1974. - Identification of the self-inhibitor and some germination characteristics of peanut rust uredospores. Phytopathology, 64, 990-993.
- McVEY. D.V., 1985. - Inoculation and development of rust on peanuts grown in the greenhouse. Pl. Dis. Rep., 49, 191-192.
- PORTER. D.H., SMITH. D.H., et RODRIGUEZ-KABANA. R., 1984. Compendium of peanut diseases. The American Phytopathological Society, Ed. St Paul, 73p.
- SAVARY. S., 1987. - Enquête sur les maladies fongiques de l'arachide (*Arachis hypogaea*) en Côte d'Ivoire. II. Epidémiologie de la rouille de l'Arachide (*Puccinia arachidis*). Neth. J. PL. Path, 93, 215-231.

## EXPLICATION DES PLANCHES

Abréviations: Cl, chloroplaste; Cn, cellule nécrosée; E, épiderme; F, filament germinatif; H, hyphe; N, noyau; P, paroi; Pl, parenchyme lacuneux; Pp, parenchyme palissadique, Pu, pustule; St, stomate.

Pl I. - fig 1. Détail des structures anatomiques d'un limbe sain coupe semi-fine transversale. X 3000

fig 2. Fragment d'un filament germinatif d'urédospore pénétrant l'épiderme du limbe. X 3000

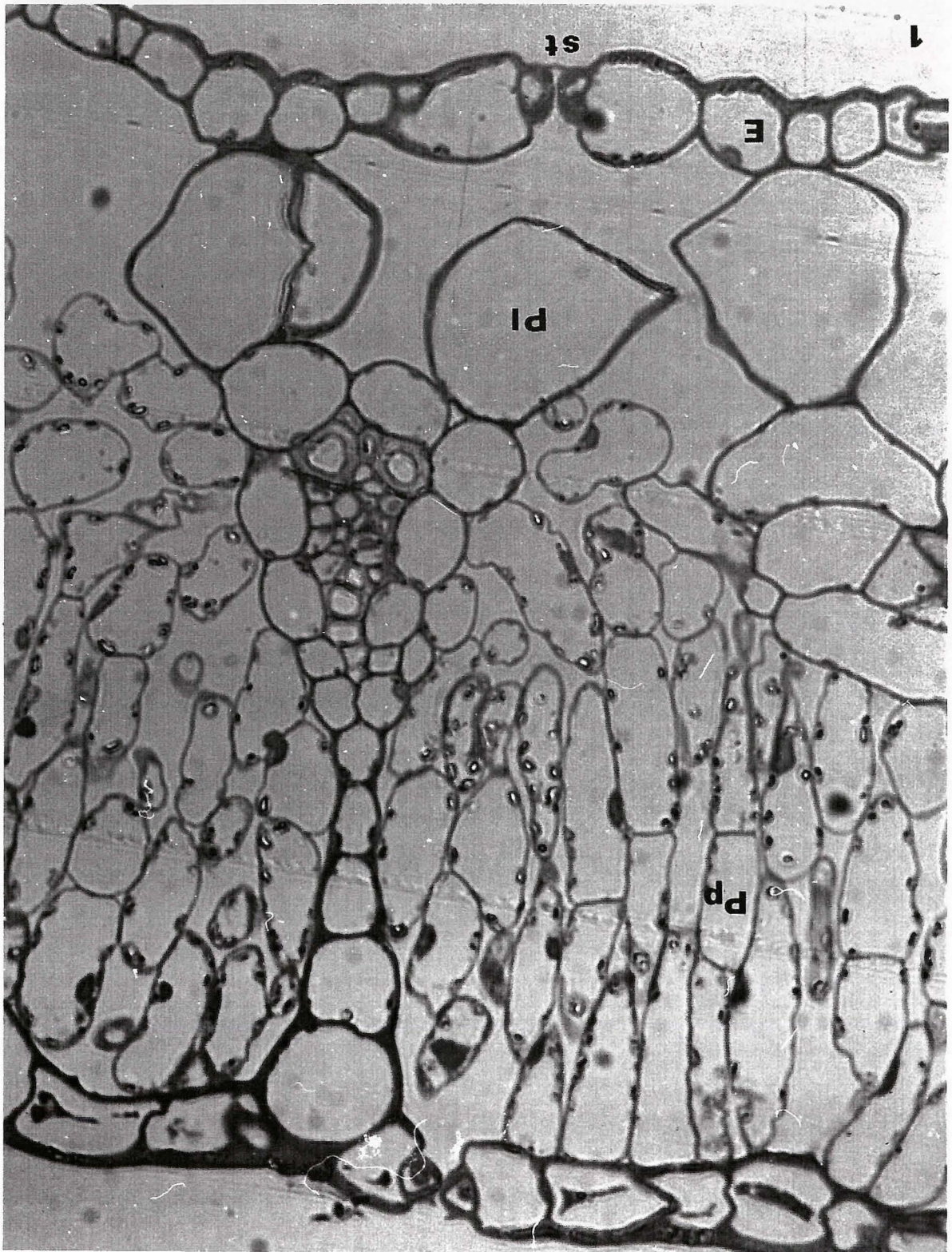
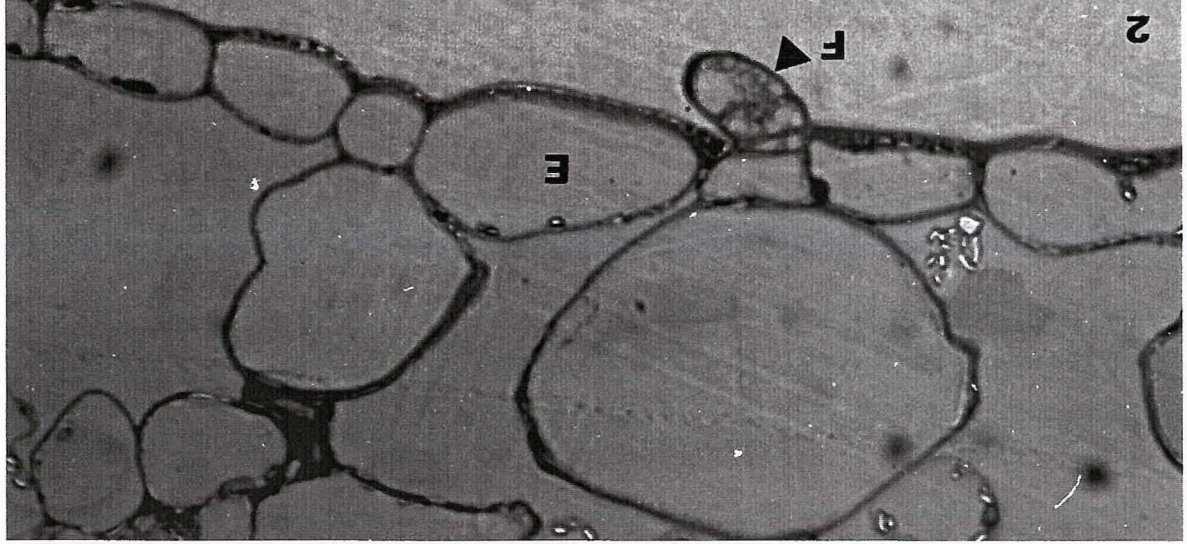
Pl II. fig 1. Premiers signes de la nécrose dans le parenchyme lacuneux inférieur. La paroi épidermique n'est pas encore épaissie et affaissée. x 3000.

fig 2. Accentuation de la nécrose. Epaississement et affaissement des parois de l'épiderme inférieur. X 3000.

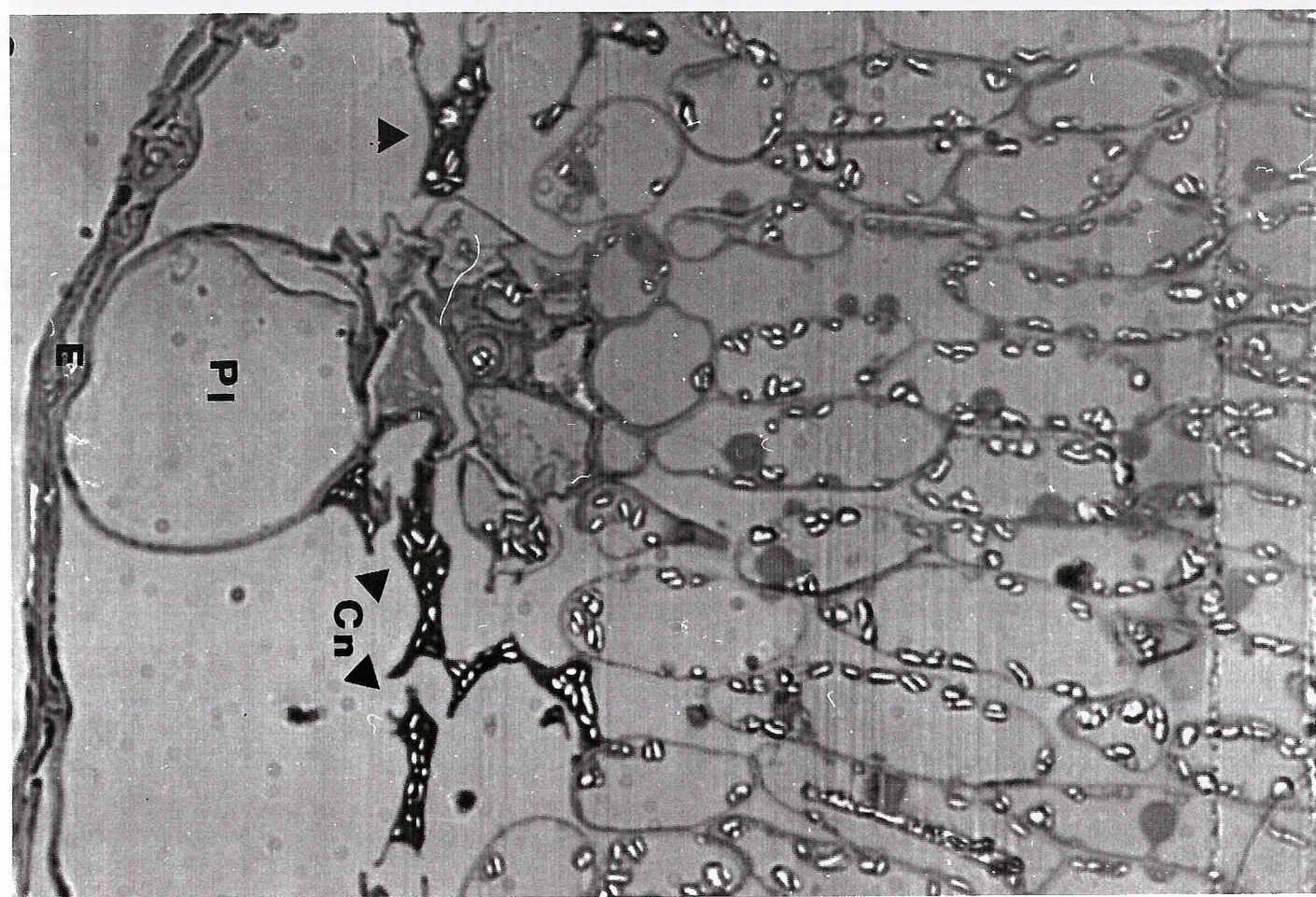
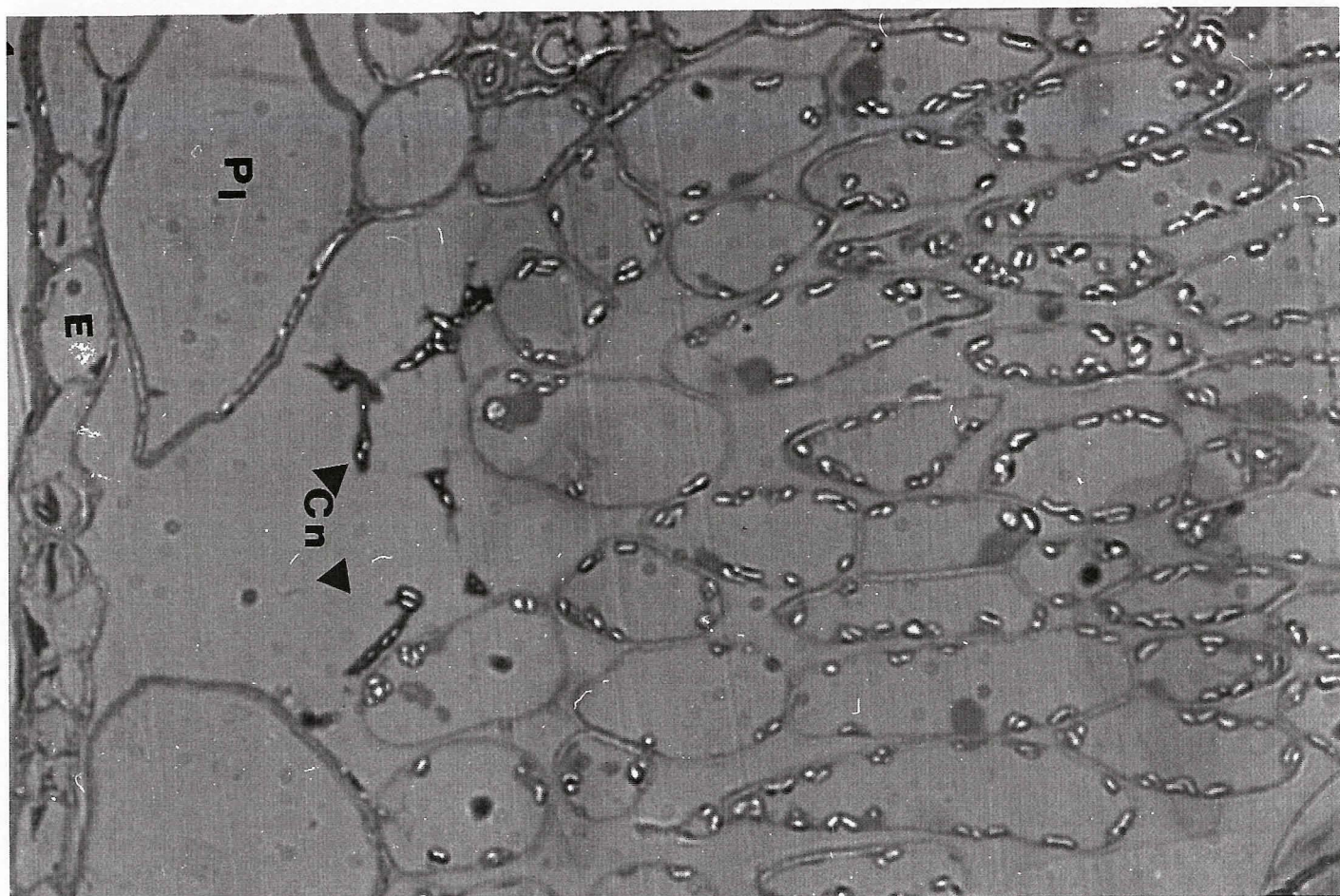
Pl III. fig 1. Infection généralisée au parenchyme palissadique. Pustule ouverte sur la face inférieure du limbe. x 3000.

fig 2. Détail de la partie basale de la pustule avec

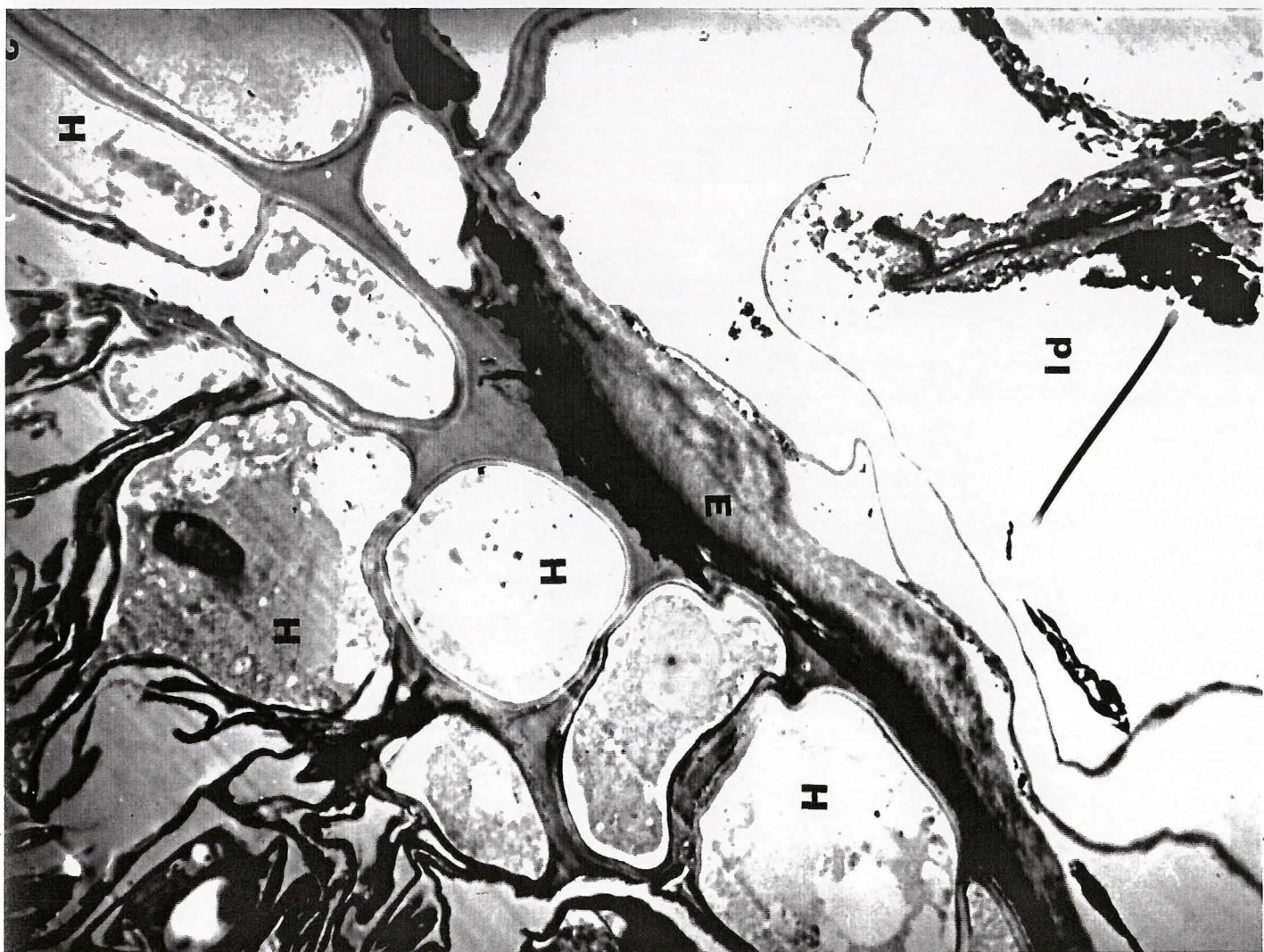
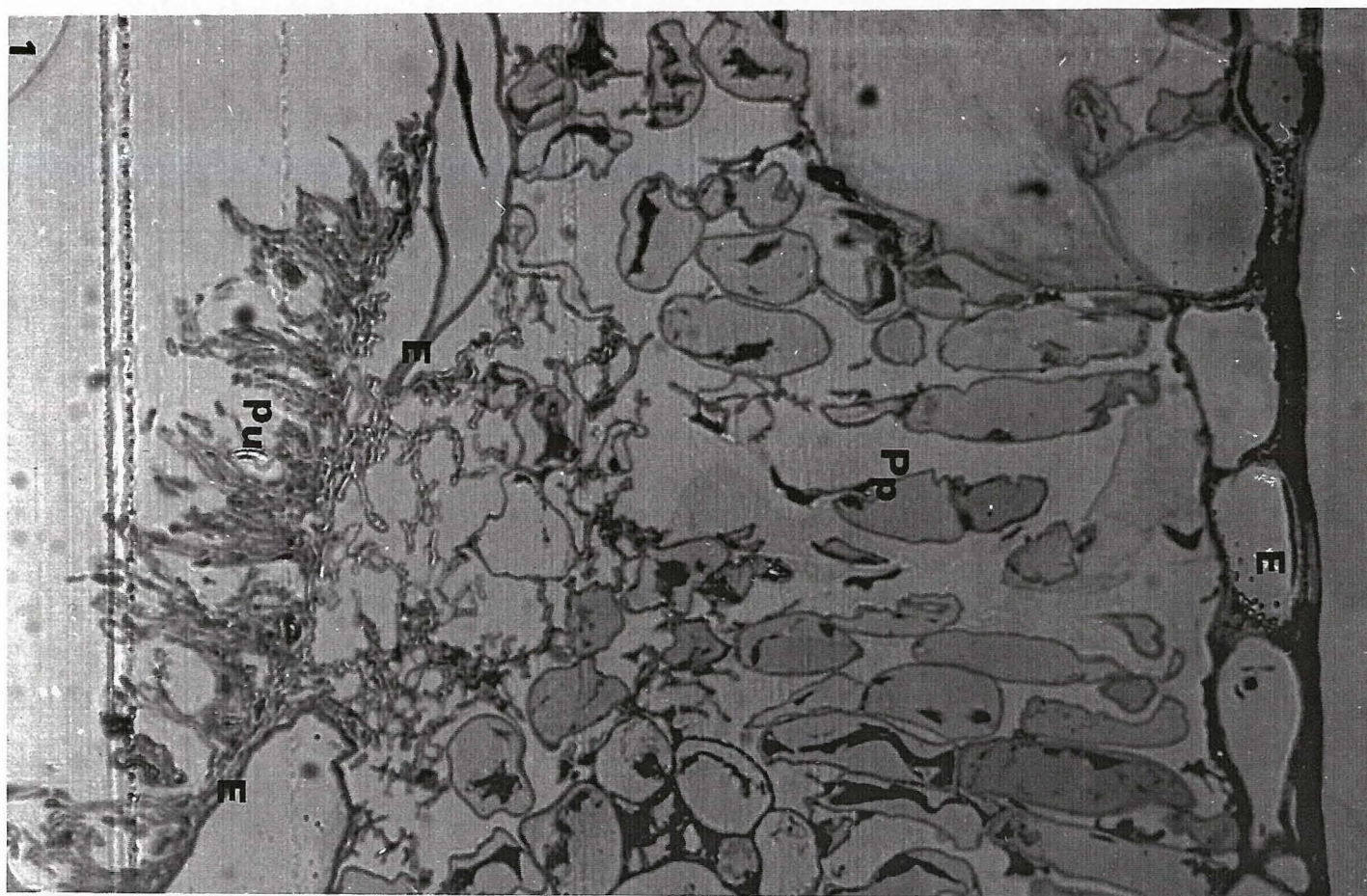




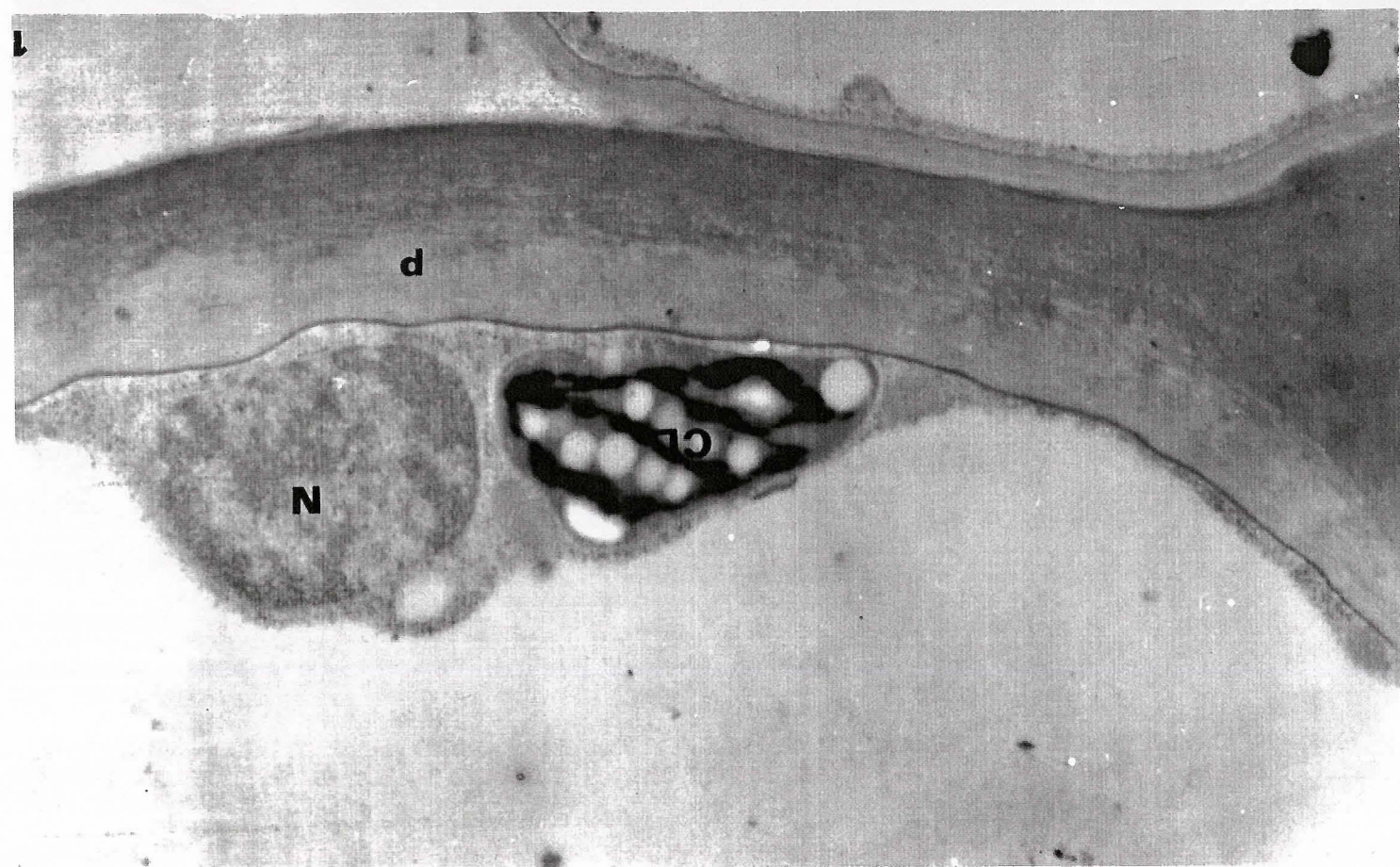














**INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL, BURKINA-FASO**

## RAPPORT SEMESTRIEL DU PROJET STD DE LA PERIODE NOVEMBRE 92 - AVRIL 93

TITRE DU PROJET : Lutte contre les maladies foliaires de  
l'arachide en Afrique de l'Ouest  
Réf. : 910 317

Dans le cadre du renforcement des recherches sur les  
maladies de l'arachide en Afrique de l'Ouest, il a été conclu un  
accord entre la CEE d'une part et les participants sus-cités :

LE BURKINA FASO : INERA/CNRST  
IDR/UNIVERSITE

LA FRANCE : Le CIRAD (ex. IRHO)  
Le MUSEUM

L'ANGLETERRE : Université Collège de Londres.

Cet accord qui a fait l'objet du présent projet est  
financé par la CEE. A l'université de Ouagadougou représentée par  
l'IDR, nous conduisons un volet de ce projet qui vient en appui  
aux recherches appliquées menées à l'INERA/CNRST. Le volet de ce  
travail est axé sur une recherche fondamentale suite à quelques  
essais au champ. Le contenu détaillé de ce travail s'exprime en  
deux volets :

Le premier volet concerne la capacité de l'arachide à  
produire des phytoalexines foliaires en réponse à une attaque  
parasitaire. Il s'agit de mieux cerner les phytoalexines  
impliquées dans le processus afin de dégager des critères de  
résistance utilisables par le sélectionneur. La présente étude  
comporte deux étapes : l'extraction des phytoalexines à partir  
de feuilles et leur analyse et identification.



- Extraction des phytoalexines : les feuilles d'arachide inoculées avec des spores de rouille sont placées dans une chambre de culture où la température (22°C), l'humidité relative (90 %) et l'éclairage sont contrôlés. A l'apparition des pustules, deux semaines plus tard, les feuilles sont placées dans l'éthanol à 60% et infiltrées sous vide. Après 48 heures, l'extrait est passé sur une colonne de technoprep C18 25-40  $\mu$ m puis lavé avec 5ml d'éthanol à 25 %. Les phytoalexines sont alors éluées avec 1ml d'acétonitrile et recueillies dans de petits flacons. Le pouvoir antifongique des extraits contenant les phytoalexines éluées est testé sur des plaques de silice TLC aluminium qu'on pulvérise avec une suspension de spores de *Cladosporium cucumerinum*. Après migration, les produits antifongiques sont marqués par des plages blanches, signes du non-développement du champignon à ces endroits.

- Analyse et identification des phytoalexines : elles sont réalisées selon la technique de chromatographie sur colonne utilisée par le Dr. Strange (University College). Les différentes substances sont séparées par une colonne de Spherisob ODS 1, la phase liquide étant un gradient d'acétonitrile dans 1 % d'acide acétique, en se basant sur leur temps de rétention et leur fluorescence en UV comparés avec des spectres standard. La quantité est déterminée par comparaison à des courbes standard. L'identification consiste en une séparation sur une colonne spéciale de silice/quartz et une détection grâce au "detector selectif" de Hewlett Packard.

Le deuxième volet consiste à examiner des coupes de feuilles infectées par la rouille au microscope optique et électronique par transmission. Il s'agit de réaliser une étude expérimentale approfondie de la contamination fongique de l'arachide sous ses aspects structuraux, ultrastructuraux, cytochimiques et cytophysiologiques, sur le terrain et au laboratoire.

Il s'agira en particulier :

- d'étudier de "façon comparative", à la fois sur variété sensible et sur variétés résistantes cultivées *in vivo* et *in vitro*, les modalités de la pénétration du champignon parasite au niveau des feuilles (germination de la spore, filament germinatif) :

- d'établir une véritable **chronologie des événements** qui produisent de façon concomitante, à l'intérieur des tissus de la feuille agéressée ;

- d'évaluer la **dynamique du développement interne du parasite**, son action sur les parois, la diffusion d'enzymes ou de toxines ;

- d'apporter un éclairage précis sur le **type de résistance éventuel** rencontré dans les tissus de l'hôte (résistance de type mécanique ou encore de type chimique).

Les études devront se faire, à la fois, sur place au niveau des cultures traditionnelles naturellement et au laboratoire, à partir de plants sains cultivés sous conditions contrôlées (enceintes climatiques et contaminés artificiellement par le champignon parasite dont la cytologie du filament germinatif aura préalablement été parfaitement établie.

En conclusion, ces deux volets permettront l'identification de facteurs biochimiques et structuraux impliqués dans les mécanismes de résistance d'*Arachis hypogaea* face aux attaques de *Puccinia arachidis*. Ces facteurs constitueront des marqueurs qui permettront une meilleure sélection des variétés résistantes.



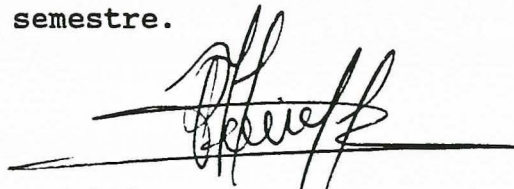
Après cet exposé du déroulement de ce travail nous avons reçu les fonds du projet vers le 15 juin 1993. Faute de préfinancement, nous n'avons pu démarrer le travail avant cette date. Notre rapport pour cette période de novembre 92 - avril 93 va concerner principalement :

- la mise en place des essais au champ pour l'identification des variétés résistantes en vue du travail d'isolement de phytoalexines et de l'étude au microscope électronique. Au cours de cette campagne, une trentaine de variétés venant de l'ICRISAT, des USA et de l'INERA ont été placées à Niangoloko. Des observations suivies de notions vont nous permettre d'identifier les variétés résistances c'est-à-dire celles qui auront des notes de rouille entre 1 et 2. Ces variétés seront également testées au laboratoire pour confirmer ou infirmer leur comportement. Au cours des mois à venir ce sont ces variétés qui seront utilisées pour les extractions ;

- l'acquisition d'un certain nombre de matériel. A ce propos, nous avons entrepris des commandes pour l'acquisition d'un microscope photonique, d'un appareil à ultra son, d'une pompe a vide etc.. Le matériel permettra le déroulement effectif des travaux ;

- les séjours en France et Londres. Dans le cadre de la collaboration, deux séjours sont prévus au Muséum et à Londres. A ce sujet, nous sommes en train de contacter ces laboratoires pour définir les périodes de ces séjours.

En conclusion, il faut dire que nous sommes au début de nos travaux et nous serons en mesure de donner un rapport plus exhaustif durant le prochain semestre.



Philippe SANKARA / -



**FICHE DE PRESENTATION DU PROJET**

## LUTTE CONTRE LES MALADIES FOLIAIRES DE L'ARACHIDE EN AFRIQUE DE L'OUEST

---

### Objectifs

Le projet a pour but de mettre au point un ensemble de moyens de lutte contre les trois principales maladies foliaires de l'arachide en Afrique de l'Ouest (rouille, cercosporioses hâtive et tardive) où elles provoquent des pertes de rendements très élevées. Pour y parvenir, de nombreuses disciplines seront sollicitées synergiquement et mises en oeuvre par plusieurs organismes de recherche européens ou africains venant en appui au programme de sélection de variétés résistantes conduit au Burkina-Faso :

- Les recherches amont porteront sur l'acquisition d'une meilleure connaissance de la biologie et de l'épidémiologie des pathogènes ainsi que des relations hôtes-pathogènes ;
- Les recherches de terrain se proposent de parfaire les méthodes d'inoculation artificielle et de mettre au point une méthode de lutte génétique, agronomique, chimique et finalement intégrée, modulable en fonction des moyens et des besoins du petit producteur africain.

### Activités

#### A - Relations hôtes-pathogènes et biologie :

- Etudes de la survie des spores et de l'évolution des symptômes dans le temps ;
- Etude de la capacité de l'arachide à produire des phytoalexines foliaires en réponse à une attaque parasitaire ;
- Etude de la dynamique du développement interne du parasite.

#### B - Appui à la sélection :

- Etude des races de rouille et de cercosporiose ;
- Evaluation des lignées au champ par notation spécifique des maladies.

#### C - Lutte intégrée :

- Mise au point de techniques culturales préventives ;
- Optimisation de la protection fongicide (détermination des critères permettant de déclencher les traitements chimiques à bon escient).

### Impact attendu

Le projet aboutira à la définition d'un itinéraire technique permettant d'améliorer très sensiblement la productivité des cultures arachidières tout en limitant au strict minimum le recours aux intrants chimiques onéreux et polluants : les traitements chimiques systématiques seront exclus ; la protection sera optimisée par la détermination de seuils critiques de sévérité et par le recours éventuel à des produits fongicides spécifiques, combiné à l'utilisation de variétés résistantes à une ou plusieurs maladies et à la pratique de techniques culturales préventives.



AGRICULTURE-STD3

COORDONNATEUR :

→ CIRAD  
CA - CULTURES ANNUELLES  
B.P. 5035  
34032 MONTPELLIER  
FRANCE

MONSIEUR ROBERT SCHILLING

TEL : ~~07615800~~ 67 61 58 78 (direct)  
FAX : ~~07615888~~ 67 61 56 32

CONTRACTANTS ASSOCIES :

→ UNIVERSITY OUAGADOUGOU  
INSTITUT DE DEVELOPPEMENT RURAL  
BOITE POSTALE 7021  
OUAGADOUGOU  
BURKINA FASO

MONSIEUR PHILIPPE SANKARA

TEL : 226307070  
FAX : 226307617

→ MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE  
LABORATOIRE DE CRYPTO GAMIE  
RUE BUFFON 12  
75005 PARIS  
FRANCE

~~0686683000~~ M. ABADIE

TEL : 40793195  
FAX : 40793594

PARTENAIRES :

→ INSTITUT D'ETUDES & RECHERCHES AGRICOLES  
BOITE POSTALE 7192  
OUAGADOUGOU  
BURKINA FASO

Docteur CLEMENTINE DABIRE

TEL : 226362018  
FAX : 226300984

→ UNIVERSITY COLLEGE LONDON  
DEPARTEMENT OF BIOLOGY  
DARWIN BUILDING  
WC1E 6BT LONDON  
UNITED KINGDOM

DR. RICHARD STRANGE

TEL : 44713877050  
FAX : 44713807096